23544(左)

5154.5

动物学研究1996,17(3):225—232

CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

Zoological Research

珞珈山森林土壤原生动物生态学研究及 土壤原生动物定量方法探讨*。

宁应之 沈韫芬

摘要 1993年1月至12月、用直接计数法和培养计数法对武昌珞珈山森林土壤原生动物 进行了周年定量研究、发现原生动物丰度的周年动态趋势为;春季(3—5月)达到高峰,低 谷出现在冬季(1-2 月)、夏秋季保持较平稳的变动。原生动物丰度与土壤环境因子间的相关 性分析结果表明,原生动物丰度的周年动态与土壤含水量及土壤 pH 值的变化呈显著的正相 关、与土壤温度的变化无明显相关关系。珞珈山森林土壤原生动物优势种为梨波豆虫(Bodo edax)、球波豆虫(Bodo globosus)、卵形隐滴虫(Cryptomonas ovata)、长尾尾滴虫(Cercomonas longicauda)、线条三足虫(Trinema lineare)、斜口三足虫(T. enchelys)、长厘壳虫(Centropyxis elongata)、宽口圆壳虫(Cyclopyxis eurostoma)。常见种有梨波豆虫(Bodo edax)、球波豆虫(B. globosus)、跳侧滴虫(Pleuromonas juculans)、长尾尾滴虫(Cercomonas longicauda)、小滴虫 (Monas minimum)、斜口三足虫(Trinema enchelys)、线条三足虫(T. lineare)、长匣壳虫 (Centropyxis elongata)、膨胀肾形虫(Colpoda in fata)、齿脊肾形虫(C. steinii)、僧帽肾形虫(C. cucullus)、有肋薄咽虫(Leptopharynx costatus)、凹扁前口虫(Frontonia depressa)。两种定量方 法的结果所反映的土壤原生动物丰度的周年变化趋势是一致的,但培养计数结果比直接计数 结果分别大 100-1000 倍, 一方面说明了土壤中的大多数原生动物个体以包囊形式存在, 只 有少数呈活动状态,另一方面说明培养计数法过高地估计了土壤中原生动物的现存量。对两 种计数方法进行对比分析讨论后认为,只有直接计数法能对土壤中原生动物的数量提供较为 可靠的估计,在客观条件允许的情况下,以采用直接计数法为佳。

在国际上,土壤原生动物的研究始于 19 世纪中叶,到本世纪初才有比较广泛和系统的研究。研究的内容主要包括分类区系、个体形态结构与发生、个体生态学、种群生态学、群落生态学、区域地理学、植物根围原生动物生态学、原生动物在陆地生态系统中的作用、原生动物对土壤肥力和环境污染的指示作用等。在我国,土壤原生动物的研究起步不久,而且研究甚少,系统性的研究更少,人们对原生动物在土壤中的作用还不够重视。中国地域辽阔,陆地生态系统复杂多样,土壤原生动物的情况也必然多种多样,因而广泛地开展土壤原生动物的研究十分必要。1993 年,中国科学院上海昆虫研究所尹文英院土主持的国家自然科学基金重点资助项目——中国典型地带土壤动物研究的工作在全国广泛展开,共选 5 个典型地带(中热带、北热带、暖温带、温带、高寒带)的土壤进行土壤动

ф -:

[•] 国家自然科学基金重点资助项目"中国典型地带土壤动物研究"部分内容

本文 1995年5月29日收到,同年7月14日修回

]7卷

物定点研究。珞珈山为 5 个定点之外的亚热带补充点、在该点所做的工作要达到两个目的,一是研究珞珈山森林土壤原生动物生态,主要包括土壤原生动物丰度的周年动态及其与土壤环境因子变化间的关系、土壤原生动物优势种与常见种以及原生动物三大类群数量的比例关系。二是探讨土壤原生动物定量研究方法。目前国际上通用的计数方法有两类,一类是培养计数法,另一类是直接计数法。这两类方法哪类更好,其结果能更客观地反映土壤原生动物的现存量?还没有人做过同步的对比试验。本研究对同一份样品用两种方法进行了同步比较研究,并以此为依据、讨论分析两类计数方法的优缺点,在定量方法的选用上提出了建议。

1 材料与方法

1.1 选点与采样

在珞珈山选 3 个样点,用 15 ml 圆筒形取样器在每个点取 5 个 0—5 cm 层土样,测土 壤温度、pH 值及土壤含水量。15 份土样充分混匀,取其中一定量进行直接计数,剩余的 自然风干备用。每月采样 2 次。

1.2 定量方法

1.2.1 直接计数法 鞭毛虫、裸肉足虫与纤毛虫的计数。取 0.4 g 新鲜土样,加土壤浸出 液 3 ml, 充分摇匀,取悬浮液在显微镜下计数、直到将全部悬浮液检查完为止。计数在 采样后 12 h 内完成。土壤浸出液配制、300 g 土壤加 1 L 蒸馏水,煮沸 10 min, 过滤取滤液。

有壳肉足虫的计数:取 0.1 g 新鲜土样,加自来水 2 ml,充分摇匀。为了辨别空壳与活体,可用苯胺蓝溶液染色一个晚上。活体被染成均匀的蓝色。染色固定后的样品可存放较长时间(1 月至数月)。苯胺蓝溶液配制:450 ml 5%的石碳酸水溶液加 30 ml 1%的苯胺蓝水溶液,再加 120 ml 浓缩醋酸,过滤取滤液。

用苯胺蓝染色固定的样品在计数前用离心方法洗涤去除苯胺蓝。为了使土壤颗粒在载玻片上均匀分布、可在 5 ml 土壤悬浮液中加入 0.5 ml 甘油清蛋白,立即检查。

- 1.2.2 培养计数法 采用"三级 10 倍稀释法"
- 1.2.2.1 培养基制备: 0.5 g NaCl+1,2 g 琼脂+98 ml 蒸馏水, 搅拌后在高压灭菌锅中灭菌, 趁热倒人培养皿、在凝固之前插入 5 个内径为 1.8 cm、高为 0.6 cm 的玻璃环。每个上样需 6 个培养皿含 30 环。
- 1.2.2.2 土样悬浮液的配制及接种培养:取2g风干土样,加198 ml 无菌水,充分震荡,此时稀释度为10²;用定量吸管吸取2 ml 稀释度为10²的土壤悬浮液,加入18 ml 无菌水,充分摇匀,此时稀释度为10³。依此法逐级稀释,即可得到稀释度为10⁴、10⁵、10⁶的稀释液,取其中的连续三级悬浮液,每级各取1 ml 接种于各自的培养环内,每级稀释液接种2个培养皿10个环。25℃下培养、在培养后的第4、7、11 天镜检。珞珈山土样采用10²—10⁴稀释系列。
- 1.2.2.3 统计、经过镜检,得知鞭毛、肉足虫和纤毛虫在哪些环里出现,在哪些环里没有。根据未出现环数,查原生动物密度换算表(Stout, 1962)得知丰度。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 结果与讨论

2.1 珞珈山森林土壤环境因子

土壤环境因子包括 3 项、即含水量、温度和 pH 值。各月份的土壤环境因子见表 1。

表 1 珞珈山森林土壤环境因子(1993年)

Tah.1	Environmental	factors of	f forest soil in	Mount	Luo iiashan(1993)

H W	环境因子				
月份	含水量(%)	土壤温度(℃)	pH 值		
1月	18.60	5.0	6.3		
2 月	18.00	9.50	6.3		
3 月	31.00	10.90	6.5		
4 月	38.40	14.50	6.5		
5月	31.60	19.00	6.5		
6月	19.80	23.80	6.4		
7月	19.80	27.90	6.4		
8月	21.80	27.90	6 3		
9月	16.60	22.30	6.3		
10 月	17.20	15.30	6.4		
11 月	18.00	11.10	6.3		
12 月	19.40	5.0	6.3		

从表 1 可以看出, 土壤含水量在 3、4、5 月较高, 4 月份达到最高值, 9 月份含水量最低。土壤温度在 6、7、8 月较高, 在 12 月和 1 月最低。pH 值变幅小。

2.2 土壤原生动物丰度

通过直接计数和培养计数所得到的各月份的原生动物丰度见图 1。

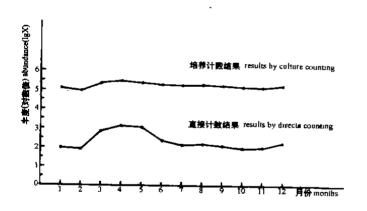


图 1 珞珈山森林土壤原生动物丰度的周年动态 Fig.1 Annual abundance dynamics of forest soil protozoa in Mount Luojiashan

则求得三大类群的比例关系为:

鞭毛虫数量:肉足虫数量:纤毛虫数量=186:156:11 =17:14:1

从图1可以看到,无论用直接计数法还是培养计数法、原生动物丰度均在3、4、5月份较高,4月份达到最高值;丰度低谷在冬季(1、2月份),夏秋季(6、7、8、9、10、11月份)保持较平稳的变动。培养计数结果分别比直接计数结果大100—1000倍。

2.3 原生动物三大类群数量 的比例关系

2.3.1 直接计数所得的比例 关系 将一周年中各个月份三 大类群的数量分别取平均值,

17卷

2.3.2 培养计数所得的比例关系 将一周年各月统计到的三大类群的数量分别取平均值,则得比例关系为:

鞭毛虫数量:肉足虫数量:纤毛虫数量=125570:46188:32

=3924:1443:1

从比例关系可以看到,原生动物三大类群中,鞭毛虫数量最大,肉足虫数量次之,纤毛虫数量最小。

2.4 原生动物优势种

将直接计数所统计到的每月数量最大和次大的两个种作为优势种。优势种为梨波豆虫(Bodo edax)、球波豆虫(Bodo globosus)、卵形隐滴虫(Cryptomonas ovata)、长尾尾滴虫(Cercomonas longicauda)、线条三足虫(Trinema lineare)、斜口三足虫(T. enchelys)、长匣壳虫(Centropyxis elongata)、宽口圆壳虫(Cyclopyxis eurostoma)。

2.5 原生动物常见种

根据直接计数统计到的全年 12 个月样品中出现频率 > 75%的种类定为常见种。常见种有梨波豆虫、球波豆虫、跳侧滴虫(Pleuromonas jaculans)、长尾尾滴虫、小滴虫(Monas minimum)、斜口三足虫、线条三足虫、长匣壳虫、膨胀肾形虫(Colopoda in flata)、齿脊肾形虫(C. steinii)、僧帽肾形虫(C.cucullus)、有肋薄咽虫(Leptopharynx costatus)、凹扁前口虫(Frontonia depressa)。

2.6 原生动物丰度的周年动态与土壤环境因子变化间的关系

以各环境因子为自变量,原生动物丰度为因变量,进行回归分析,结果见表 2。

表 2 土壤原生动物丰度的周年动态与土壤环境因子变化间的相关关系
Tab.2 Correltion between annual abundance dynamics of soil protozoa and variations
of soil environment factors

回归方程	n	r	p
A1 = 28295.1 + 6629.16W	12	0.830	0.00083
A2 = -987.54 + 59.5945W	12	0.960	0.00000
$A1 = -3.2098 \times 10^6 + 53135H$	12	0.814	0.00126
A2 = -26227.5 + 4169.7H	12	0.822	0.00105
A1 = 139306 + 2388.47T	12	0.344	0.27311
A2 = 344,95 + 0.58586T	12	0.011	0.97329

- Al. 培养计数所得原生动物丰度值(protozoan abundance by culture counting);
 - A2. 直接计数所得原生动物丰度值(protozoan abundance by directe counting);
 - W: 土壤含水量(soil water amount):
- n: 样品数(amount of sample);
- T: 土壤温度(soil temperature)。
- r: 相关系数(correlation coefficient).

H: pH值(pH value);

p. 显著性水平(significance level)。

回归分析结果表明,原生动物丰度的周年动态与土壤含水量及 pH 值的变化呈显著的正相关,与土壤温度的变化间无相关关系。

3 分析与结论

3.1 陆地生态系统与水生态系统相比,最显著的特征是水分含量低且变化无常,而原生动物是百分之百意义上的、一时一刻也离不开水的动物类群,一旦水分含量急性减少低于

生存阈值时,瞬时之间身体便会破裂而亡、在水分含量慢性减少低于生存阈值时,原生动物即形成包囊,由活动态变为休眠态。因此,土壤水分含量是土壤原生动物生存、繁殖与 . 分布的限制因子。回归分析的结果表明,原生动物丰度动态与土壤含水量的变化呈显著正相关、春季 (3、4、5月) 土壤含水量达到高峰时、原生动物丰度亦达到高峰; 冬季 (1、2月) 土壤含水量较低时、原生动物丰度亦处于低谷、夏季土壤含水量保持较平稳的变化、原生动物丰度亦呈现平稳的动态。

一般而言、土壤原生动物丰度变化与土壤温度的变化呈正相关,大多数种类在接近最高年平均温度时发育最佳。照此一般性、珞珈山土壤原生动物丰度应该在7—8月达到高峰值。但在土壤生态系统中,只要温度变化未达到极端值(如土温在零下几度、十几度甚至几十度),则含水量起着主要的限制作用。因而原生动物丰度动态与土壤温度变化之间的关系不明显。

珞珈山土壤 pH 值变化范围为 6.3—6.5。从相关分析结果来看,原生动物丰度动态与 pH 值变化间呈显著正相关、即 pH 值愈高(趋向中性),则丰度愈大。这说明除少数喜酸性种类(如一些有壳肉足虫)外,大多数土壤原生动物种类是适中性的,在趋中性的土壤中生长和繁殖较好。

- 3.2 培养计数结果比直接计数结果大 100—1000 倍,这表明在土壤中,原生动物的大多数个体呈休眠状态、即以包囊形式存在于土壤中,活动的个体只是一小部分。形成包囊是各种生态系统中原生动物的普遍特性。但这种特性在土壤原生动物群落中更为突出。土壤原生动物除了在受到水分胁迫时形成包囊外,在长期进化与适应过程中,还形成一种自发性包囊形成机制,即即使未受到环境胁迫、它亦能定期地形成包囊。如前所述、土壤水分是土壤原生动物生存、繁殖和分布的限制因子,而土壤水分含量变化无常、土壤原生动物的这种自发性包囊形成机制正是为了防止在突然的严重水分胁迫时,种群和群落中个体数量的大量损失、使个体数量保持相对恒定。此外,土壤原生动物还存在延时解囊作用,即土壤由水分缺乏转为水分充足时,包囊亦暂不萌发。这也是土壤原生动物在长期进化和适应过程中形成的一种保护机制。由于土壤含水量变化无常,虽然水分由缺乏转为充足,但有可能在短时间内又转为缺乏,如果这个时间长度太短,不够原生动物一个世代的生存时间,就会导致许多个体的死亡。延时解囊则可以避免这种结果的发生。普遍形成包囊、生理性包裹形成机制及延时解囊作用的存在,使得土壤原生动物的大多数个体呈休眠状态。
- 3.3 土壤原生动物三大类群中,年平均丰度以鞭毛虫为最大、肉足虫次之,纤毛虫最小而且较之鞭毛虫和肉足小得多。由此看来、鞭毛虫和肉足虫在土壤生态系统中的物质循环和能流中以及在土壤生物的食物链网中,似乎比纤毛虫起着更重要的作用。但事实是否确实如此,需进一步探讨、因为纤毛虫在丰度上虽远小于鞭毛虫和肉足虫、但其个体的平均大小却近似肉足虫而远远大于鞭毛虫、因而从生物量角度考虑,其作用绝对不可低估。
- 3.4 珞珈山森林土壤原生动物优势种为梨波豆虫、球波豆虫、卵形隐滴虫、长尾尾滴虫、线条三足虫、斜口三足虫、长匣壳虫、宽口圆壳虫。这些优势种是从丰度角度考虑而确立的,因而皆为鞭毛虫和肉足虫。如果从生物量角度考虑,毫无疑问,纤毛虫也会在优势种中占一席之地。常见种包括梨波豆虫、球波豆虫、跳侧滴虫、长尾尾滴虫、小滴虫、斜口三足虫、线条三足虫、长匣壳虫、膨胀肾形虫、齿脊肾形虫、僧帽肾形虫、有肋薄咽虫、凹扁前口虫。

17卷

3.5 20 世纪 60-70 年代, 由 Singh 建立和由 Stout 改进的"三级 10 倍稀释培养计数法" (three level ten-fold dilution method) 曾对土壤原生动物的定量研究起了重要作用,而 且至今仍为许多土壤原生动物工作者所采用。其优点一是简便易行,只要是能分辨出鞭毛 虫、肉足虫和纤毛虫的人都可使用;二是不受时间、地点的限制,因为该方法不要求在采 样后短时间内完成定量分析,所以即使天南海北的土样,只要经过自然风干,都可带回或 邮回实验室进行定量研究。然而、培养计数法有着天然的缺陷、其一、由于该方法对土样 进行培养、这就使所有包囊、包括那些在当时自然环境条件下并不萌发的包囊,都可能在 优越的培养条件下脱囊而呈活动态,因而所得结果过高地估计了土壤中活动的原生动物的 数量、所反映的实际上是原生动物潜在的最大丰度。从珞珈山土壤原生动物丰度来看,培 养计数结果比直接计数结果大 100-1000 倍 (图 1)。另一方面、培养计数法又过低地估 计甚至忽略了数量较小的类群的丰度。从两种计数方法的结果看、培养计数结果所反映的 鞭毛虫、肉足虫和纤毛虫三大类群丰度的比例为 3924:1443:1, 而直接计数结果所反映 的比例为 17:14:1。很显然,培养计数过低地估了纤毛虫的丰度,其原因在于稀释度的 选择。鞭毛虫和肉足虫数量较大,必须要选择较高的稀释倍数,否则,它们的出现环数将 达到 30 环,缺失环为零环、就无法从密度换算表上查到它们的丰度值。纤毛虫数量少, 在选择较高稀释倍数时,就会使纤毛虫缺失环多甚至缺失环数为 30 环,所得到的纤毛虫 的丰度小甚至为零,这样必然过低地估计纤毛虫的数量。其二,由于培养计数在镜检时只 能在低倍镜下进行,因而只能分辨大的类群,无法鉴定到种,这样每个种的数量无法统计 到,也就不可能从量的角度来确定优势种,只能根据定性研究中每个种出现的相对多少来 确定优势种。鉴于上述培养计数法的缺陷,一些原生动物工作者开始采用直接计数法对土 壤原生动物进行定量研究。由于直接计数在采样后 12 h 内完成, 在此短时间内, 休眠的 个体(包囊)尚未萌发,采样当时自然条件下活动的个体亦未繁殖,因而所得结果即是采 样当时当地自然条件下土壤生态系统中活动的或称为发挥功能的原生动物个体数。此外, 由于在直接计数时可在高倍镜下鉴定种类,可以统计到各种原生动物的数量,因而可以从 量的角度确定原生动物优势种。上述分析表明,为了比较客观地反映土壤原生动物现存 量、以采用直接计数法为佳。然而,任何科研活动都是受客观条件限制的。经费、地理隔 阻及工作条件的限制等,阻碍了原生动物工作者在远离实验的样点较长期地工作。因而, 直接计数法的采用受到很大限制,这正是许多工作者依然只能采用培养计数法来估计土壤 原生动物数量的原因。

参考文献

沈韫芬、刘江、宋碧玉等,1992. 原生动物. 见: 尹文英主编. 中国亚热带土壤动物. 北京, 科学出版社. 97—156. 崔振东、1983. 长白山北坡森林生态系统土壤原生动物初步研究 森林生态系统研究, 3: 144—153.

Bamforth S S. 1971. Population dynamics of leaf-inhabiting protozoa, J. protozool., 18:75.

Bamforth S S, 1985. Symposium on "protozoan ecology": the role of protozoa in litters and soils, *J. Protozoal*, 32(3): 404-409

Bamforth S S, 1991. Enumeration of soil ciliate active forms and cysts by a direct count method, Agricul. Eco. and Envir., 34: 209-212.

231

- Foissner W, 1987. Soil protozoa: fundmental problems, ecological significance, adaptions in ciliates and testaceans. bioindicators, and guide to the literature, Progress in protistology, Bio-press Ltd. 269-212.
- Foissner W. 1982. Ökologie und taxonomie der Hypotrichia (Protozoa:Ciliophora) einiger östereichischer böden Arch. Protistenk, 126: 19-143.
- Krystyna J, Hanna S, 1993. Methods for assessment of population density. In: Micczysław G, Leszek G, Methods in Soil Zoology Poland. 142-326.
- Lüftenegger G, Petz W, Foissner W. Adam H, 1988. The efficiency of a direct counting method in estimating the numbers of microscopic soil organisms, *Pedobiologia*, 31:95-101.
- Page F G, 1976. An illustrated key to freshwater and soil amoebae, Freshwater Biol. Assoc., 33-147.
- Singh B N, 1955. Culturing soil protozoa and estimating their numbers in soil. In: Kevan D K, McE, ed. Soil Zoology. Butterworths, Lindon. 403-411
- Stout J D, 1962. An estimation of microfaunal populations in soils and forest litters, J. Soil., 13: 314-320
- Stout J D, Heal D W, 1967. Soil Biology New York: Academic Press. 149-195,
- Sandon H. 1927. The composition and distribution of the protozoan fauna of the soil. Edinburgh, and London, Oliver and Boyd,

Schon W, 1973 Humus forms and testacea populations. Pediabiologia, 13(5): 353-360.

ECOLOGICOL STUDIES ON THE FOREST SOIL PROTOZOA OF MOUNT LUOJIASHAN AND EXPLORATION OF QUANTITATIVE METHODS FOR SOIL PROTOZOA

Ning Yingzhi Shen Yunfen

(Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072)

Abstract

The forest soil protozoa of Mount Luojia was studied quantitatively with both direct and culture counting methods from January to December in 1993. It was dicovered that the summit of the annual abundance dynamics of protozoa was in spring (March, April & May), the valley in winter (January & Febrary), and the abundance fluntuated gently in summer and fall. The results of regression analyses showed that there were obvious positive correlations between the annual dynamics of protozoan abundance and the variations of water amount and pH value of the soil, and there was no obvious correlation between the dynamics and the variations of the soil temperature. The dominant species were Bodo edax, Trinema lineare, T. enchelys, B. globosus, Centropyxis elongata, Cryptomonas ovata, Cyclopyxis eurostoma and Cercomonas longicauda. The common species were B. edax, B. globosus, Pleuromonas jaculans, T. lineare, T. enchelys, Centropyxis elongata, Colpoda in flata, C. steinii, Leptopharynx costatus, Frontonia depressa, Cercomonas longycauda, C. cucullus and Monas

17条

minimum. The variation trend of protozoan abundance showed by the two counting methods was consistent, but the results of the culture method were 10^2 to 10^3 times as much as the ones of the direct counting method. This demonstrated that most of protozoan individuals existed in cyst forms and only small numbers in active forms in soil, and on the other hand, the culture counting method overestimated the standing crop of soil protozoa. Therefore, we believed that direct counting method gives more reliable estimations of the abundance of soil protozoa and it is better to adopt direct counting method if the objective conditions permit.

Key words Soil protozoa, Abundance, Direct counting method, Culture counting method, Regression analysis

(上接第 216 页)

6. 参考文献只列作者参阅的主要文献,不编号,附于文末。未公开发表的资料勿列入。参考文献按中文、日文、西文、俄文的次序编排。中文按姓氏笔划为序,其余文种按字母顺序排列。文后参考文献 著录格式采用国家标准(GB 7714-87)中的"作者-出版年"制,即期刊书写格式为,作者,年份. 题目,期刊名称,卷(期);页码,例如;

刘湘生, 1980. 关于我国主题法和分类法检索体系标准化的浅见. 北图通讯, (2), 19-23.

书籍文献书写格式为:作者、年份、书名、出版地、出版社、页码、例如:

武汉大学图书馆学系编、1980、目录学研究资料汇辑:第四分册外国目录学、武汉、武汉大学图书馆学系 . 173--178.

中国作者的汉语拼音须写全名。外文期刊名下划一横线、卷号下划一波纹线。

- 7. 来稿请写明详细通讯地址,邮政编码、并附工作单位推荐信。勿一稿两投(包括国内外,凡在正式书刊上发表过的论文,忽本刊不再接受)。不符合本刊技术要求的稿件一律退作者修改。不拟刊登的稿件,原稿忽不退还。
 - 8. 本刊对来稿有权修改。退修稿件请在1月内寄还,超过6个月,按自动退稿处理。
- 9. 本刊收取审理费和版面费。稿件一经发表、酌致稿酬。论文作者赠送当期本刊 1 册、抽印本 30 份。简报作者只赠送当期本刊 1 册。
- 10. 本刊编辑部地址,昆明市教场东路 32 号中国科学院昆明动物研究所《动物学研究》编辑部 650223。

《动物学研究》编辑部